PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation [7]: B01J 19/00, B01L 3/00

A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: **WO 00/53308**

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 14. September 2000 (14.09.00)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/01701

(22) Internationales Anmeldedatum: 25. Februar 2000 (25.02.00)

(30) Prioritätsdaten:
199 10 392.5 5. März 1999 (05.03.99) DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten ausser US)*: INSTITUT FÜR PHYSIKALISCHE HOCHTECHNOLOGIE E.V. [DE/DE]; Winzerlaer Strasse 10, D–07745 Jena (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)*: KÖHLER, Johann, Michael [DE/DE]; Untergasse 8, D–07751 Golmsdorf (DE).

(74) Anwalt: PFEIFFER, Rolf–Gerd; Patentanwaltsbüro Pfeiffer & Partner, Winzerlaer Strasse 10, D–07745 Jena (DE).

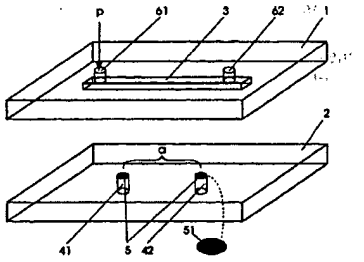
(81) Bestimmungsstaaten: CA, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Veröffentlicht
Mit internationalem Recherchenbericht.
Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

(54) Title: MICROCOLUMN REACTOR

(54) Bezeichnung: MIKROSÄULENREAKTOR

(57) Abstract



The invention relates to a microcolumn reactor for carrying out reactions on solid phases and/or with biological cells. The aim of the invention is to provide a microcolumn reactor for processes of synthesis and separation on small sample volumina that replaces an alternating sequence of binding and elution processes on a phase that is stationary bound during a test series and makes it possible to exchange the stationary phase, for example once it has been loaded. To this end, the microcolumn reactor consists of at least one first and one second substrate wafer (1; 2) that are linked with one another across their surfaces. At least one of the substrate wafers (1; 2) is provided with an elongate channel (3) which comprises in a defined section (a) of its length two passage openings (41, 42) that are implemented in the opposite substrate wafer. Said openings (41, 42) are separated from the channel (3) by a partially permeable sieve–type membrane (5). The areas of acceptance (51) of said membrane have a diameter that is chosen in such a manner as to specifically prevent microbeads and/or cells introduced into the channel from entering the passage openings (41, 42). The channel (3) is provided with at least two further openings (61, 62) outside the section (a) that is comprised by the passage openings (41, 42). Said further openings permit the microbeads and/or cells that are provided above the section (a) to be introduced and/or displaced by applying a fluid pressure (p). Means are provided that temporarily close at least one of the passage openings (41, 42) and one of the openings (61, 62).

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung Betrifft einen Mikrosäulenreaktor zur Durchführung von Reaktionen an festen Phasen und/oder mit biologischen Zellen. Die Aufgabe der Erfindung, für Synthese– und Trennprozesse an kleinen Probenvolumina, einen Mikrosäulenreaktor zu schaffen, mit Hilfe dessen, anstelle einer alternierenden Folge von Binde– und Elutionsprozessen an einer während einer Betriebsserie stationär eingebundenen Phase, ein Austausch der stationären Phase, z.B. nach Beladung, erfolgen kann, wird dadurch gelöst, dass der Mikrosäulenreaktor aus mindestens einem ersten und einem zweiten Substratplättchen (1; 2), die miteinander flächig verbunden sind, besteht, wobei in wenigstens eins der Substratplättchen (1; 2) wenigstens ein längserstreckter Kanal (3) eingebracht ist, der in einem vorgebbaren Abschnitt (a) seiner Länge von zwei Durchtrittsöffnungen (41, 42), die in das gegenüberliegende Substratplättchen eingebracht sind, erfasst ist, wobei die Durchtrittsöffnungen (41, 42) vom Kanal (3) durch eine Teildurchlässige siebartige Membran (5) getrennt sind, deren Durchlassbereiche (51) so bemessen sind, dass sie in den Kanal (3) eingebrachte Mikroperlen und/oder Zellen vorgebbar am Eintritt in die Durchtrittsöffnungen (41, 42) hindern, und dass der Kanal (3), ausserhalb des durch die Durchtrittsöffnungen (41, 42) erfassten Abschnitts (a), mit wenigstens zwei weiteren Öffnungen (61, 62) versehen ist, die ein Einbringen und/oder Verschieben der über dem Abschnitt (a) vorgesehenen Mikroperlen und/oder Zellen durch Anlegen eines fluidischen Drucks (p) ermöglichen und Mittel zum zeitweisen Verschluss wenigstens einer der Durchtrittsöffnungen (41, 42) und einer der Öffnungen (61, 62) vorgesehen sind.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

Mikrosäulenreaktor

Beschreibung

Die Erfindung betrifft einen Mikrosäulenreaktor zur Durchführung von Reaktionen an festen Phasen und/oder mit biologischen Zellen. Dabei kann der vorgeschlagene Mikrosäulenreaktor beispielsweise bei nachfolgenden Synthese- und Trennprozessen:

- Grignardreaktion und Herstellung anderer metallorganischer Verbindungen,
- Trocknen von Lösungsmitteln mit Hilfe metallischer oder oxidischer Trocknungsmittel,
- Ionenaustauschprozessen und
- der Extraktion von festen Phasen

vorteilhaft zur Anwendung gelangen. Insbesondere findet die Erfindung im Bereich von komplexen kombinatorisch-chemischen oder Screening-Operationen Anwendung oder um biologische Screening-Prozesse automatisiert durchführen zu können.

Probenpartikel ("Perlen", "Beads") werden seit Jahrzehnten für die Separation und Synthese im labortechnischen Bereich eingesetzt. Meistens handelt es sich dabei um Glas- oder Polymerkügelchen, welche Durchmesser von 0.01 mm bis 1 mm, typischerweise um die 0.1 mm, besitzen und trocken oder vorgequollen als loses Schüttgut in einen Behälter gefüllt und dann mit Flüssigkeit umspült werden, wobei zwischen der Festphasenoberfläche der Partikel und der sie umgebenden Flüssigkeit ein Adsorptions- oder Reaktionsprozeß abläuft. Verfahren der Säulenchromatographie (z.B. Gelfiltration), der Säulenextraktion, der Immundiagnostik, der Biomolekülreinigung (z.B. DNA-Reinigung) sowie der homogenen und heterogenen Synthese (von Oligonukleotiden, Peptiden oder kombinatorischen Substanzbibliotheken) nutzen diese Technik aus. Bei allen diesen Verfahren und Vorrichtungen ist eine feste Phase, an die Reaktionspartner angebunden sind, oder die als Reaktionsoberfläche dient, im Reaktionsgefäß während der Reaktion fest eingebunden. Die Prozesse werden durch eine Abfolge von einzelnen Binde- und Abspaltungsvorgängen geführt. Die Entfernung der stationär

angeordneten festen Phase aus dem Reaktor ist während einer Betriebsserie derartiger Vorrichtungen nicht vorgesehen, nicht möglich oder sie ist zeitraubend und wenig praktikabel.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, für Synthese- und Trennprozesse an kleinen Probenvolumina, einen Mikrosäulenreaktor zu schaffen, mit Hilfe dessen, anstelle einer alternierenden Folge von Binde- und Elutionsprozessen an einer während einer Betriebsserie stationär eingebundenen Phase, ein Austausch der stationären Phase, z.B. nach Beladung, erfolgen kann, um etwa komplexe Stoffgemische oder auch Partikel und Zellen effizienter zu trennen und kombinatorische Synthesen leichter und schneller durchführen zu können.

Die Aufgabe wird durch die kennzeichnenden Merkmale des ersten Patentanspruchs gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen sind durch die nachgeordneten Ansprüche erfaßt.
Das Wesen der Erfindung besteht darin, daß ein Mikrosäulenreaktor zur Durchführung von Reaktionen an festen Phasen und/oder mit biologischen Zellen geschaffen ist, der aus mindestens einem ersten und einem zweiten Substratplättchen besteht, die miteinander flächig verbunden sind, wobei in wenigstens eins der Substratplättchen wenigstens ein längserstreckter Kanal eingebracht ist, der in einem vorgebbaren Abschnitt seiner Länge von zwei Durchtrittsöffnungen, die in das gegenüberliegende Substratplättchen eingebracht sind, erfaßt ist, wobei die Durchtrittsöffnungen vom Kanal durch eine teildurchlässige siebartige Membran getrennt sind, deren Durchlaßbereiche so bemessen sind, daß sie in den Kanal eingebrachte Mikroperlen und/oder Zellen vorgebbar am Eintritt in die Durchtrittsöffnungen hindern, und daß der Kanal, außerhalb des durch die Durchtrittsöffnungen erfaßten Abschnitts, mit wenigstens zwei weiteren Öffnungen versehen ist, die ein Einbringen und/oder Verschieben der über dem Abschnitt vorgesehenen Mikroperlen und/oder Zellen durch Anlegen eines fluidischen Drucks ermöglichen und wenigstens eine der Durchtrittsöffnungen und eine der Öffnungen verschließbar sind.
Die Erfindung soll nachstehend anhand schematischer Ausführungsbeispiele näher erläutert werden. Es zeigen:

Fig. 1 eine erste Ausführungsform eines Mikrosäulenreaktors mit seinen funktionsbestimmenden Baugruppen in einer Explosionsdarstellung,

Fig. 2 eine zweite Ausführungsform eines Mikrosäulenreaktors mit seinen funktionsbestimmenden Baugruppen in einer Explosionsdarstellung,

Fig. 2a eine andere Art der Verbindung von Durchtrittsöffnungen mit zu- bzw. abführenden Kanälen,

Fig. 3 einen Längsteilschnitt durch eine Ausführungsform nach Fig. 1 oder Fig. 2,

Fig. 4 und 5 mögliche Anordnungsformen mehrerer Mikrosäulenreaktoren,

Fig. 6 eine beispielhafte Verschaltung mehrere Mikrosäulenreaktoren zur Synthese einer speziellen Substanzbibliothek in einem Blockschema und

Fig. 7a-d eine weitere Ausführungsform eines Mikrosäulenreaktors in verschiedenen Fertigungsschritten.

In Figur 1 ist 1 eine erste Ausführungsform eines Mikrosäulenreaktors mit seinen funktionsbestimmenden Baugruppen in einer Explosionsdarstellung dargestellt. Nach Fig. 1 besteht der Mikrosäulenreaktor aus zwei Substratplättchen 1, 2, wobei im Beispiel in das erste Substratplättchen 1, hier bestehend aus Glas, mit den Abmessungen 15 mm · 8 mm · 1 mm, ein längserstreckter Kanal 3 eingebracht ist, dem eine Breite von 1 mm, eine Tiefe von 100 µm und eine Länge von 10 mm gegeben ist. Dieser Kanal ist durch zwei Öffnungen 61, 62, hier Bohrungen, mit zwei nicht dargestellten Fluidanschlüssen verbunden. Für das zweite Substratplättchen 2 ist im Beispiel ein Siliziumwafer mit den Abmessungen 15 mm · 8 mm · 0.5 mm gewählt, in welches zwei Durchtrittsöffnungen 41, 42 derart eingearbeitet sind, daß sie bei paßgenauer Positionierung zum Glasplättchen 1 einen Abschnitt a erfassen, der im Beispiel über den Endbereichen des Kanals 3 zu liegen kommt. Die Durchtrittsöffnungen 41, 42 sind mit einer teildurchlässigen siebartigen Membran, hier in Form einer Siliziumoxinitridporenmembran überspannt. Die Dicke der Membran beträgt im Beispiel 2 µm und die Durchlaßbereiche 51 der Membran

weisen Poren mit Durchmessern von 5 µm auf. Je nach Einsatzfall und der zum Einsatz gelangenden Mikroperlen 6 können die konkreten Größen der Durchlaßbereiche 51 variabel vorgebbar festgelegt werden. Die Porenmembran dient dem Zurückhalten der in den Kanal 3 einzubringenden Partikel oder Zellen 7. Ebenso kann im Rahmen der Erfindung, je nach Einsatz des Mikrosäulenreaktors, die Membran (5) durch eine nanoporöse Dünnschichtmembran gebildet sein, deren Porengrößen in einem Bereich zwischen 5 ... 500 nm festgelegt sind.

Soll den Durchtrittsöffnungen 41, 42 eine Struktur gegeben werden, wie sie in Fig. 3 angedeutet ist, bei der die Durchtrittsöffnungen durch zwei an ihren schmalen Basisflächen aufeinanderstehende pyramidenstumpfförmige Kanalbereiche parallel zur Flächennormalen n des zweiten Substratplättchens 2 gebildet ist, setzt man für das Substratplättchen 2 einen Si(100)-Wafer ein, der beidseitig mit einer geeigneten Ätzmaske (z.B. Si-Oxinitrid) versehen ist. Diese Maske bildet an der Vorderseite ein Array von Mikrofenstern, deren Abmessungen die Porenweite festlegen. Typischerweise wird eine Porenweite von 5 µm realisiert. Diese ist bequem mit herkömmlichen Mitteln der Fotolithografie und Ätztechnik herstellbar. Mittig zu dieser Porenstruktur werden von der Rückseite des Si-Wafers zwei Fenster so strukturiert, daß beim Ätzen von beiden Seiten zwei pyramidenstrunpfförmige Kanäle entstehen, die an ihrer dem ersten Substratplättchen 1 zugewandten Oberfläche durch Siebböden verschlossen sind.

Sollen mit den Durchtrittsöffnungen 41, 42 gleichzeitig Kanalstrukturen zur Fluidkontaktierung der mobilen Phase innerhalb der Substratebene des Substratplättchens 2 erzeugt werden, so daß die Anschlüsse 41, 42 bspw. seitlich an den Stirnseiten aus dem Mikrosäulenreaktor herausgeführt sind, ist für das Substratplättchen im Beispiel ein Si-Wafer (in 100-Orientierung für geneigte Kanalwände oder in 110-Orientierung für senkrechte Kanalwände) eingesetzt, der mit einer Siebporenmebranmaskenstruktur 5 versehen ist, die im Bereich des weiter verlaufenden Kanals 411, 412 durch ein der Kanalweite entsprechendes Fenster, das bis zum Chiprand reicht, begleitet wird (vgl. Fig. 7a-d). Die Rückseite des Si-Wafers bleibt völlig von einer ätzresistenten Schutzschicht (z.B. Si_3N_4) bedeckt. Zunächst wird der Si-Wafer mit einem isotrop wirkenden Ätzbad (z.B. auf HF-Basis) so

geätzt, daß die Stege zwischen den Einzelporen der Siebstrukturmaske vollständig unterätzt werden. Anschließend wird mit einem anisotropen Ätzbad (z.B. auf KOH-Basis) weitergeätzt, um die geneigten bzw. senkrechten Kanalkanten zu erhalten. Die Figuren 7a-d zeigen das Ergebnis vorstehend beschriebenen Vorgehens anhand einer beispielhaften Struktur. Dabei ist aus Fig. 7a ein in das erste Substratplättchen 1 eingebrachter Kanal 3 ersichtlich. Fig. 7b zeigt die in das zweite Substratplättchen eingebrachte Struktur mit den zum Substratrand verlängert ausgebildeten Kanalabschnitten 411 und 421, wobei Fig. 7c die Verhältnisse nach Fig. 7b im seitlichen Schnitt darstellt und Fig. 7d verdeutlicht in transparenter Darstellung in Draufsicht die Orientierung der einzelnen genannten Teile zueinander, wenn das erste und zweite Substratplättchen miteinander verbunden sind.
Die zur Fig. 1 beschriebenen ersten und zweiten Substratplättchen (1, 2) werden nach Herstellung der beschriebenen Strukturen miteinander durch anodisches Bonden verbunden.

Die zuvor beschriebenen speziellen Ausführungsformen sind besonders vorteilhaft mit herkömmlichen Bearbeitungsschritten eingeführter Mikrostrukturierungstechniken herstellbar, beschränken die Erfindung jedoch nicht darauf. Ebenso können für das erste und/oder zweite Substratplättchen 1, 2 ein Glasplättchen und/oder ein Plättchen aus einem Kunststoff gewählt sein, wobei der Kanal 3 in das erste Substratplättchen 1 eingebracht ist und die dem ersten Substratplättchen 1 zugewandte Oberfläche des zweiten Substratplättchens 2 durchgängig mit einer Membran überzogen ist, in die zumindest im Bereich der Durchtrittsöffnungen 41, 42 eine mikrostrukturierte Perforation zur Bildung der Durchlaßbereiche 51 eingebracht ist. Insbesondere kann hier das zweite Substratplättchen 2 mit einer das Substratplättchen überspannenden perforierten Polymerfolie 50 versehen sein, wie es in Fig. 2 schematisch angedeutet ist. Auch eine solche Ausführung läßt andere Kanalführungen zu, wie es in Fig. 2a anhand einer beispielhaften Kanalführung 411, 421 im Substratplättchen 2 angedeutet ist.

In Figur 3 ist ein Längsteilschnitt durch eine der bislang beschriebenen Ausführungsformen nach Fig. 1 oder Fig. 2 dargestellt. Dabei ist

ersichtlich, wie der Kanal 3 im zusammengefügten Zustand der Substratplättchen 1, 2 mit der festen Phase, hier in Form von Mikroperlen 7 verfüllt ist. Bei vorliegendem Vorschlag ist es nicht erforderlich, extreme Packungsdichten der stationären Phase 7 zu erreichen. Wichtig ist nur, daß die Abstände zwischen den Partikeln der stationären Phase 7 so bemessen sind, daß während der Verweilzeit eines Moleküls im Reaktorraum, worunter hier der durch die Durchtrittsöffnungen 41, 42 erfaßte Abschnitt des Kanals 3 zu verstehen ist, ein genügend häufiger Kontakt mit der stationären Phase stattfindet. Das sollte bereits bei Partikelgrößen im mittleren bis unteren Mikrometerbereich bei Verweilzeiten von weniger als einer Sekunde, z.T. im unteren Millisekundenbereich, gegeben sein. Die Festlegung der Partikelgrößen und/oder der zurückzuhaltenden oder durchzulassenden Zellen erfolgt in Abhängigkeit von der vorgegebenen konkreten Aufgabenstellung und der daraufhin anzupassenden Porengröße der teildurchlässigen siebartigen Membran 5, die so festzulegen ist, daß ein Verstopfen der Poren ausgeschlossen ist. In Fig. 3 ist weiterhin schematisch angedeutet, daß die einzelnen Flußwege im dargestellten einzelne Mikrosäulenreaktor mit Hilfe von mindestens zwei Ventilen 91, 92 wahlweise verschließbar sind. Optional können auch die Öffnungen 42, 62 mit jeweils einem weiteren, in Fig. 3 nicht dargestellten Ventil verschließbar sein. Dadurch ist eine wahlfreie Adressierung der beiden Zu- 61, 41 und der beiden Abläufe 42, 62 des Mikrosäulenreaktors ermöglicht. Damit liegt ein Mikrosäulenreaktor vor, bei dem nicht nur die mobile Phase, z.B. eine homogene Flüssigkeit, deren Flußweg in Fig. 3 durch Pfeile i und o angedeutet ist, sondern auch die stationäre Phase, hier die Mikroperlen 7, bewegt werden kann. Durch Verschließen jeweils eines Zu- oder Abflusses läßt sich nun wahlweise nur die mobile Phase oder aber auch die stationäre Phase 7 als Suspension transportieren. Dadurch wird ein rascher Austausch von Trennmaterial möglich und es lassen sich durch Kombination mehrerer der beschriebenen Mikroreaktoren sogar Festphasentrenn- und Syntheselogiken aufbauen. Es können somit, aufgrund der mikrofluidischen Trennung von mobiler und stationärer Phase, auch spezifische Binde- und Abspaltprozesse durchgeführt werden, die weiter nachstehend beschrieben werden sollen.

In den Figuren 4 und 5 sind mögliche Anordnungsformen mehrerer Mikrosäulenreaktoren schematisch angedeutet. Je nach Ausführung können dabei die Mikrosäulenreaktoren diskret, analog zu den Figuren 1 und 2, ausgeführt und miteinander in Verbindung gebracht sein, oder wie in den Figuren 4 und 5 dargestellt, können mehrere solcher Mikrosäulenreaktoren linear (Fig. 4) jeweils eines ersten und zweiten Substratplättchens sein, oder es können auch mehrere solcher Mikrosäulenreaktoren in unterschiedlichen Ebenen (Fig. 5) miteinander in Verbindung gebracht sein, wobei jeweils eine Ebene analog zu Fig. 4 ausgeführt sein kann. Je nach vorzugebenden Reaktionsablauf können die eigentlichen Reaktorabschnitte, bestimmt durch die Länge des Abschnitts a, durch die der den Kanal 3 durch die Durchtrittsöffnungen 41, 42 erfaßt ist, zueinander in einem äquidistanten Abstand b oder in einem variabel festlegbaren Abstand c angeordnet sein. Ebenso ist es möglich, die Abstände der Durchtrittsöffnungen 41, 42 von Reaktor zu Reaktor in ihrer Länge unterschiedlich festzulegen, vgl. Fig. 4, Abstände a und a1. Vorgenannte Möglichkeiten sind einzig durch die mit den Mikrosäulenreaktoren durchzuführende Reaktion bestimmt. Weitere, insbesondere ebenfalls in Mikrosystemtechnik ausgeführte Baugruppen, wie bspw. optische Detektoren, Analyseeinheiten, Kalorimeter, elektrochemische Detektoren etc., können in die Zusammenschaltung mehrerer Mikrosäulenreaktoren eingebunden sein, wie es in Fig. 5 durch eine derartige Baugruppe 8 lediglich schematisch angedeutet ist.

Der vorgeschlagene Mikrosäulenreaktor und sein mehrfacher Einsatz durch Zusammenschaltung mehrere einzelner Mikrosäulenreaktoren eignet sich insbesondere für die Durchführung von automatisierten Prozessen der Wirkstoffentwicklung mittels beadgebundener Festphasensynthese. Mehrere solche Mikrosäulenreaktoren können auch untereinander und mittels vorzusehender Ventile zu Fluidlogiken zusammengeschaltet werden, um z.B. komplexere kombinatorisch-chemische oder Screening-Operationen mikroautomatisiert durchführen zu können. Speziell für biologische Screening-Prozesse können anstelle der in Fig. 3 angedeuteten Mikroperlen auch Zellen in das System eingebracht werden. Der Reaktor eignet sich auch für die mikromodulare Kombination mit

Mikrodurchflußküvetten für mikrophotometrische, mikrofluorimetrische oder mikrochemoluminometrische Messungen.
Der vorgeschlagene Mikrosäulenreaktor läßt ein Nachschieben neuer Reaktionspartner (Mikroperlen und/oder Zellen) durch den Kanal 3 durch Anlegen eines fluidischen Drucks p zu, so daß eine weitere Variabilität der Gesamtvorrichtung bei gleichzeitig geringst möglichem Totvolumen gegeben ist.

Die dargestellten vorteilhaften Einsatzmöglichkeiten sollen anhand nachfolgender Ausführungsbeispiele detaillierter angedeutet werden.

Zunächst soll die Synthese einer Bibliothek der 4 Tripetide Gly-Val-Leu, Gly-Gly-Leu, Gly-Val-Ala und Gly-Gly-Ala in einem Mikroreaktorfluidsystem beschrieben werden.
Zum Einsatz kommt im Beispiel ein System mit 16 Mikroreaktorsäulen, die fluidisch, wie in Fig. 6 angedeutet, verschaltet sind. Zunächst werden die Mikroreaktoren A1 und B1, sowie C1 und D1 mit Mikroperlen in Form von Polystyrol-Synthesebeads beladen, an deren Oberfläche die Aminosäure Glycin über eine Esterbindung zu einer Benzylgruppe als Spacer angekoppelt ist. Die vier Mikrosäulenreaktoren werden nach Sperrung der Fluidkanäle für die stationären Phasen (beads) durch die mit Siebböden ausgestatteten Zu- und Abführungen der Kanäle für die mobilen Phasen paarweise (A/B) mit einer 1:1 gemischten warmen Lösung von Dicyclohexylcarbodiimid und Valin, bzw. (C/D) mit einer 1:1 gemischten warmen Lösung von Dicyclohexylcarbodiimid und Glycin bespült. Die Aminogruppen der zugeführten Aminosäuren sind dabei durch tertiär-Butyloxycarbonylgruppen geschützt. Nach dem ersten Spülschritt werden alle stationäre Phasen in die Modulreihe 2 durch jeweiliges Anlegen eines fluidischen Drucks weiterbefördert und dort durch die in Reihe geschalteten Kanäle für die mobilen Phasen gespült und durch Durchleiten von leicht wasserhaltiger Trifluoressigsäure entschützt. Anschließend werden die fluidischen Phasen in die Modulgruppe 3 befördert, wobei die stationäre Phase von B2 nach C3 und die von C2 nach B3 geführt wird. In der Modulreihe 3 vollzieht sich analog zur Modulreihe 1 die Umsetzung mit geschützten Aminosäuren, wobei jetzt anstelle von Valin Leucin und anstelle von Glycin Alanin

zugeführt werden. Nach dieser Operation und einem ersten Spülschritt werden die stationären Phasen in die Modulreihe 4 befördert und dort die Schutzgruppen abgespalten. Die vier Gruppen von Synthesebeads werden anschließend in separaten Ausgängen entnommen und zur Freisetzung der Tripeptide die Benzylesterbindungen gespalten.

In einem weiteren Anwendungsbeispiel soll die Herstellung von Ethylgrignard aus Ethylchlorid für Mikrofluidsynthesen beschrieben werden.

Als stationäre Phase wird zunächst eine Suspension von Magnesiumpulver in trocknem Ethylether in einen Mikrosäulenreaktor eingetragen. Nach Sperrung des Kanals für diese stationäre Phase wird über die Zu- und Abführung für die mobile Phase der Ether durch eine warme Lösung von Ethylchlorid in Ether verdrängt. Am Ablauf der mobilen Phase wird der Ethylgrignard als Etherlösung entnommen.

Der Mikrosäulenreaktor kann wie eine Chip-Kartusche auch für die Bereitstellung von nahezu beliebigen Grignards und anderen metallorganischen Verbindungen für Mikrofluidsynthesen im Chipformat eingesetzt werden. Das System ist besonders vorteilhaft, da die Lösungen leicht wasser- und sauerstofffrei gehalten werden können (z.B. im Gegensatz zu Mikrotiterplatten und Nanotiterplatten) und aufgrund des geringen Reaktionsvolumens kann die freiwerdende Reaktionswärme leicht abgeführt werden, und es kann dadurch nicht zu einem gefährlichen Überhitzen des Reaktors kommen.

Entsprechend der eingangs geschilderten Anwendungsmöglichkeiten, läßt sich der vorgeschlagene Mikrosäulenreaktor in vielfältiger Weise vorteilhaft einsetzen.

Alle in der Beschreibung, den nachfolgenden Ansprüchen und der Zeichnung dargestellten Merkmale können sowohl einzeln als auch in beliebiger Kombination miteinander erfindungswesentlich sein.

Bezugszeichenliste

1	-	erstes Substratplättchen
2	-	zweites Substratplättchen
3	-	Kanal
41, 42	-	Durchtrittsöffnungen
411, 421	-	Kanalabschnitte im zweiten Substratplättchen
5	-	teildurchlässige siebartige Membran
50	-	Polymerfolie
51	-	Durchlaßbereiche (Poren)
61, 62	-	Öffnungen im ersten Substratplättchen
7	-	Mikroperlen und/oder Zellen
8	-	Baugruppen, wie wie bspw. optische Detektoren, Analyseeinheiten, Kalorimeter, elektrochemische Detektoren etc
91, 92	-	Ventile
a, a1	-	durch die Durchtrittsöffnungen erfaßter Abschnitt
b	-	äquidistante Abstände zwischen zusammengehörigen Durchtrittsöffnungen
c	-	unterschiedliche Abstände zwischen zusammengehörigen Durchtrittsöffnungen
i	-	Zufluß für die mobile Phase
o	-	Abfluß für die mobile Phase
n	-	Flächennormale
p	-	fluidischer Druck
A1 bis D4	-	Mikrosäulenreaktoren

Patentansprüche

1. Mikrosäulenreaktor zur Durchführung von Reaktionen an festen Phasen und/oder mit biologischen Zellen, bestehend aus mindestens einem ersten und einem zweiten Substratplättchen (1; 2), die miteinander flächig verbunden sind, wobei in wenigstens eins der Substratplättchen (1; 2) wenigstens ein längserstreckter Kanal (3) eingebracht ist, der in einem vorgebbaren Abschnitt (a) seiner Länge von zwei durch das Substratplättchen geführte Öffnungen (41, 42), erfaßt ist, wobei Filterelemente vorgesehen sind, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchtrittsöffnungen (41, 42) vom Kanal (3) durch eine teildurchlässige siebartige Membran (5; 50) getrennt sind, deren Durchlaßbereiche (51) so bemessen sind, daß sie in den Kanal (3) eingebrachte Mikroperlen und/oder Zellen (7) vorgebbar am Eintritt in die Durchtrittsöffnungen (41, 42) hindern, und daß der Kanal (3), außerhalb des durch die Durchtrittsöffnungen (41, 42) erfaßten Abschnitts (a), mit wenigstens zwei weiteren Öffnungen (61, 62) versehen ist, die ein Einbringen und/oder Verschieben der über dem Abschnitt (a) vorgesehenen Mikroperlen und/oder Zellen (7) durch Anlegen eines fluidischen Drucks (p) ermöglichen und Mittel (91, 92) zum zeitweisen Verschluß wenigstens einer der Durchtrittsöffnungen (41, 42) und einer der Öffnungen (61, 62) vorgesehen sind.

2. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß für das erste Substratplättchen (1) ein Glas und für das zweite Substratplättchen (2) eine Siliziumwafer gewählt ist, wobei der Kanal (3) in das Glasplättchen (1) eingebracht ist und die dem Glasplättchen zugewandte Oberfläche des Siliziumwafers (2) durchgängig mit einer Beschichtung versehen ist, in die zumindest im Bereich der Durchtrittsöffnungen (41, 42) eine mikrostrukturierte Perforation zur Bildung der Durchlaßbereiche (51) eingebracht ist.

3. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß für das erste und/oder zweite Substratplättchen (1, 2) ein Glasplättchen und/oder ein Plättchen aus einem Kunststoff gewählt ist, wobei der Kanal (3) in das erste Substratplättchen (1) eingebracht ist und die dem ersten Substratplättchen (1) zugewandte Oberfläche des zweiten Substratplättchens (2) durchgängig mit einer Membran überzogen ist, in die zumindest im Bereich der Durchtrittsöffnungen (41, 42) eine mikrostrukturierte Perforation zur Bildung der Durchlaßbereiche (51) eingebracht ist.

4. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Membran durch eine das zweite Substratplättchen (2) überspannende perforierte Polymerfolie (50) gebildet ist.

5. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß das erste und zweite Substratplättchen (1, 2) miteinander durch anodisches Bonden verbunden sind.

6. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß das erste und zweite Substratplättchen (1, 2) miteinander außerhalb des Bereichs des Kanals (3) durch Verklebung verbunden sind.

7. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß das erste und zweite Substratplättchen (1, 2) miteinander durch äußere Spannmittel verbunden sind.

8. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1, 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchlaßöffnungen (41, 42) jeweils mit einem in der Ebene des zweiten Substratplättchens (2) liegenden und zu einem Substratrand geführten Kanal (411, 421) verbunden sind.

9. Mikrosäulenreaktor nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß ein Kanal (3) von mehreren Durchtrittsöffnungen (41, 42) erfaßt ist, wobei jeweils zusammengehöhrige, einen Zu- (i) und Abfluß (o) bildende Durchtrittsöffnungen und jeweils einen Abschnitt (a) des Kanals (3) erfassende Durchtrittsöffnungen zueinander in einem äquidistanten (b) oder in variablen unterschiedlichen Abständen (c) angeordnet sind.

10. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß beim Vorsehen mehrerer zusammengehöriger Durchtrittsöffnungen (41, 42) auf einem gemeinsamen Substrat, oder bei fluidischer Verschaltung mehrerer diskreter Mikrosäulenreaktoren, der jeweilige Abstand (a; a1) der zusammengehörigen, einen Zu- und Abfluß bildenden Durchtrittsöffnungen, dem jeweiligen Reaktionsprozeß angepaßt, unterschiedlich lang ausgeführt ist.

11. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß mehrere, jeweils einen Kanal (3) und zwei Durchtrittsöffnungen (41, 42) aufweisende Substratplättchen linear und/oder in mehreren Ebenen als jeweils separate Bauelemente miteinander fluidisch verschaltet sind, wobei an vorgebbaren Verbindungsstellen weitere Baugruppen (8), wie bspw. optische Detektoren, Analyseeinheiten, Kalorimeter, elektrochemische Detektoren etc., vorgesehen sind.

12. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß mehrere, jeweils einen Kanal (3) und zwei Durchtrittsöffnungen (41, 42) aufweisende Substratplättchen linear und/oder in mehreren Ebenen als jeweils separate Bauelemente miteinander fluidisch verschaltet sind, wobei an vorgebbaren Verbindungsstellen weitere mikrostrukturierte Baugruppen (8), wie bspw. optische Detektoren, Analyseeinheiten, Kalorimeter, elektrochemische Detektoren etc., in die Gesamtanordnung integriert eingebracht sind.

13. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchtrittsöffnungen (41, 42) parallel zur Flächennormalen (n) in Form von zwei an ihren schmalen Basisflächen aufeinanderstehenden pyramidenstumpfförmigen Kanalbereichen gebildet sind, wobei für das zweite Substratplättchen 2 ein beidseits mit einer Ätzmaske versehenes Si(100)-Wafer eingesetzt ist, deren erste Maskenfläche zumindest über den Durchtrittsöffnungen (41, 42) mit Durchlaßbereichen (51) versehen ist und die auf der gegenüberliegenden Waferfläche aufgebrachte zweite Maskenfläche mit Ausnehmungen versehen ist, deren Öffnungen dem kleinsten lichten Öffnungsquerschnitt der Durchtrittsöffnungen (41, 42) entspricht.

14. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1, 2 und 8, dadurch gekennzeichnet, daß für das zweite Substratplättchen ein Si-Wafer mit 100-, oder 110-Orientierung eingesetzt ist, der einerseits mit einer Siebporenmebranmaskenstruktur 5 versehen ist, die im Bereich des weiter verlaufenden Kanals 411, 412 durch ein der Kanalweite entsprechendes Fenster, das bis zum Chiprand reicht, begleitet wird und die gegenüberliegende Seite des Si-Wafers vollständig von einer ätzresistenten Schutzschicht, z.B. Si_3N_4, bedeckt ist.

15. Mikrosäulenreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Membran (5) durch eine nanoporöse Dünnschichtmembran gebildet ist, deren Porengrößen in einem Bereich zwischen 5 ... 500 nm festgelegt sind.

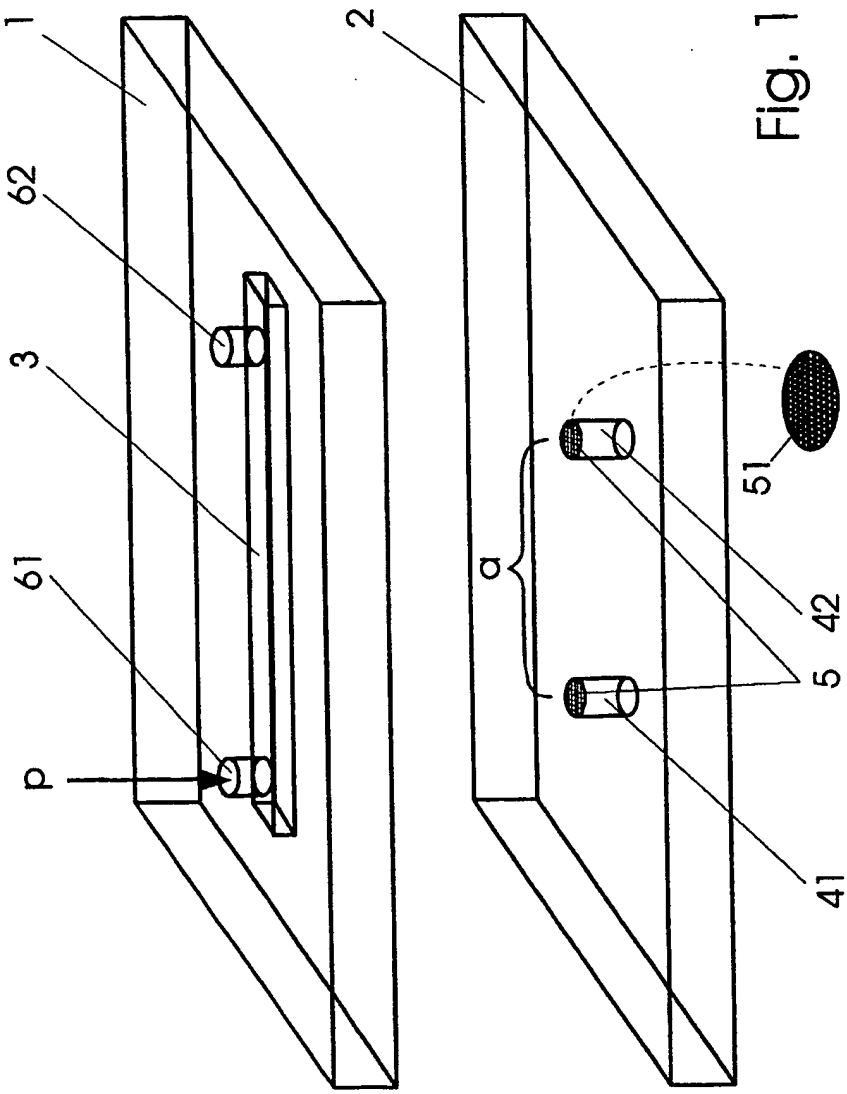


Fig. 1

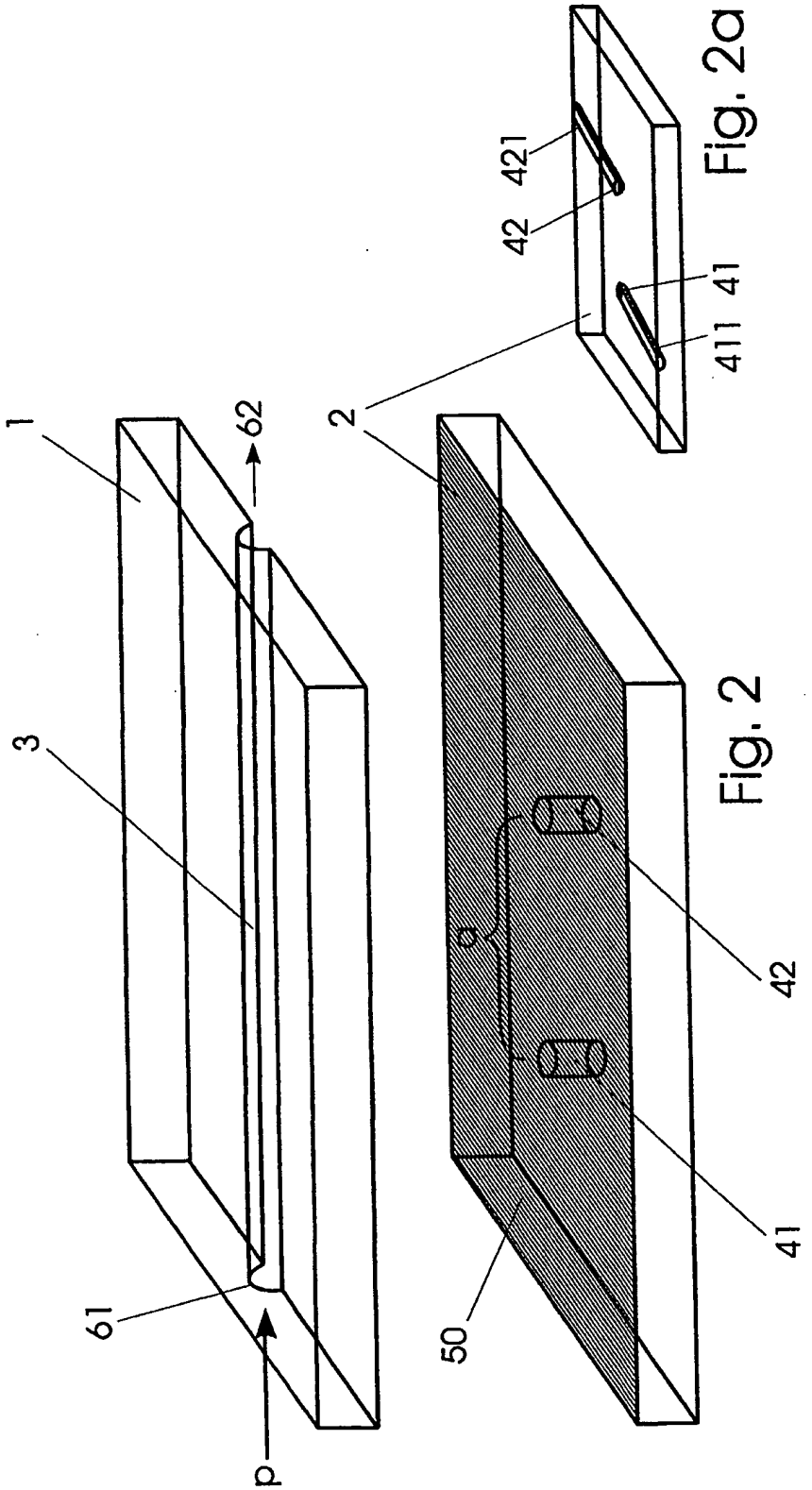


Fig. 2a

Fig. 2

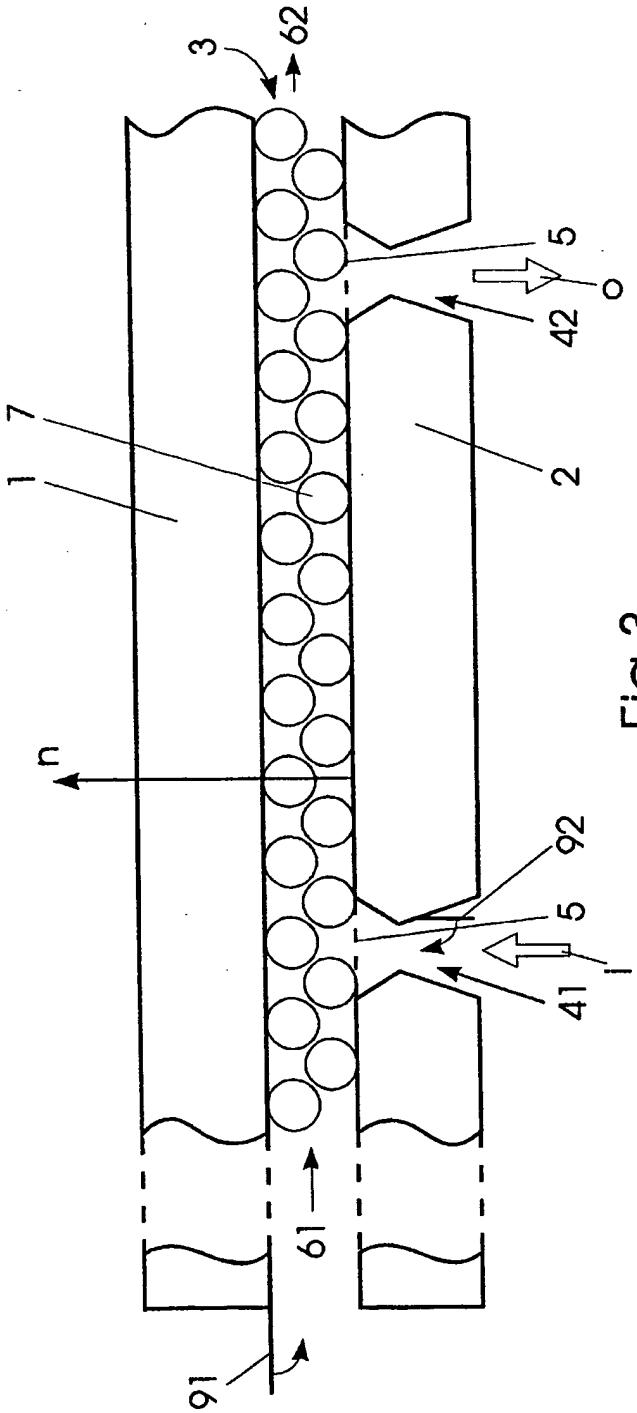


Fig.3

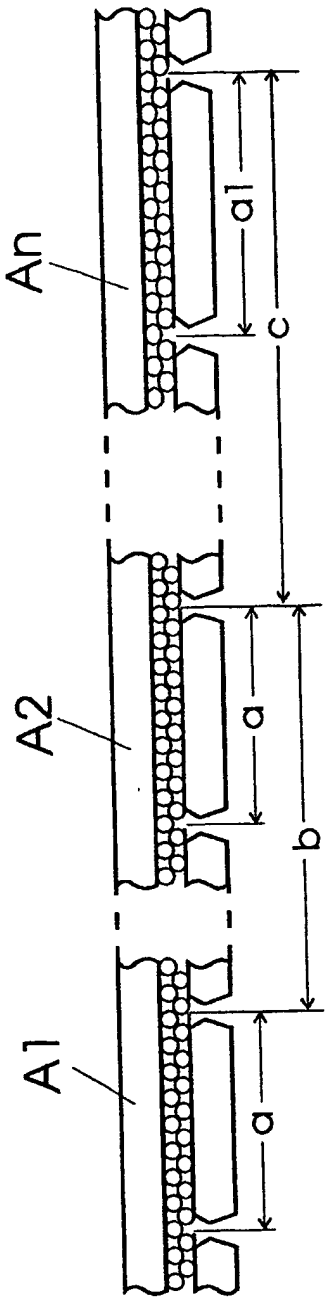


Fig. 4

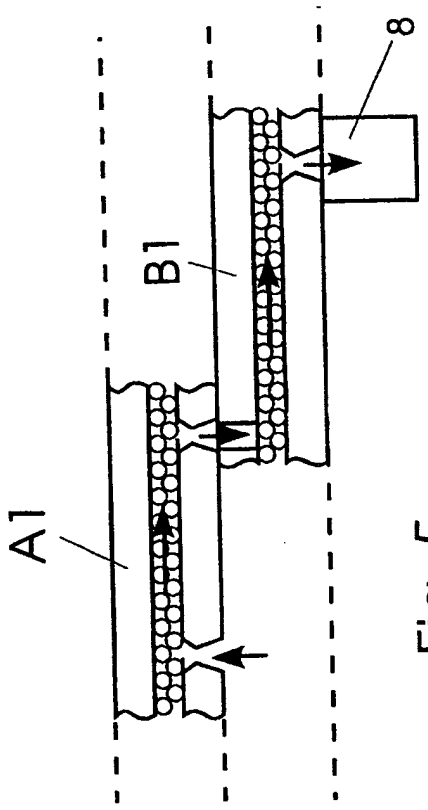


Fig. 5

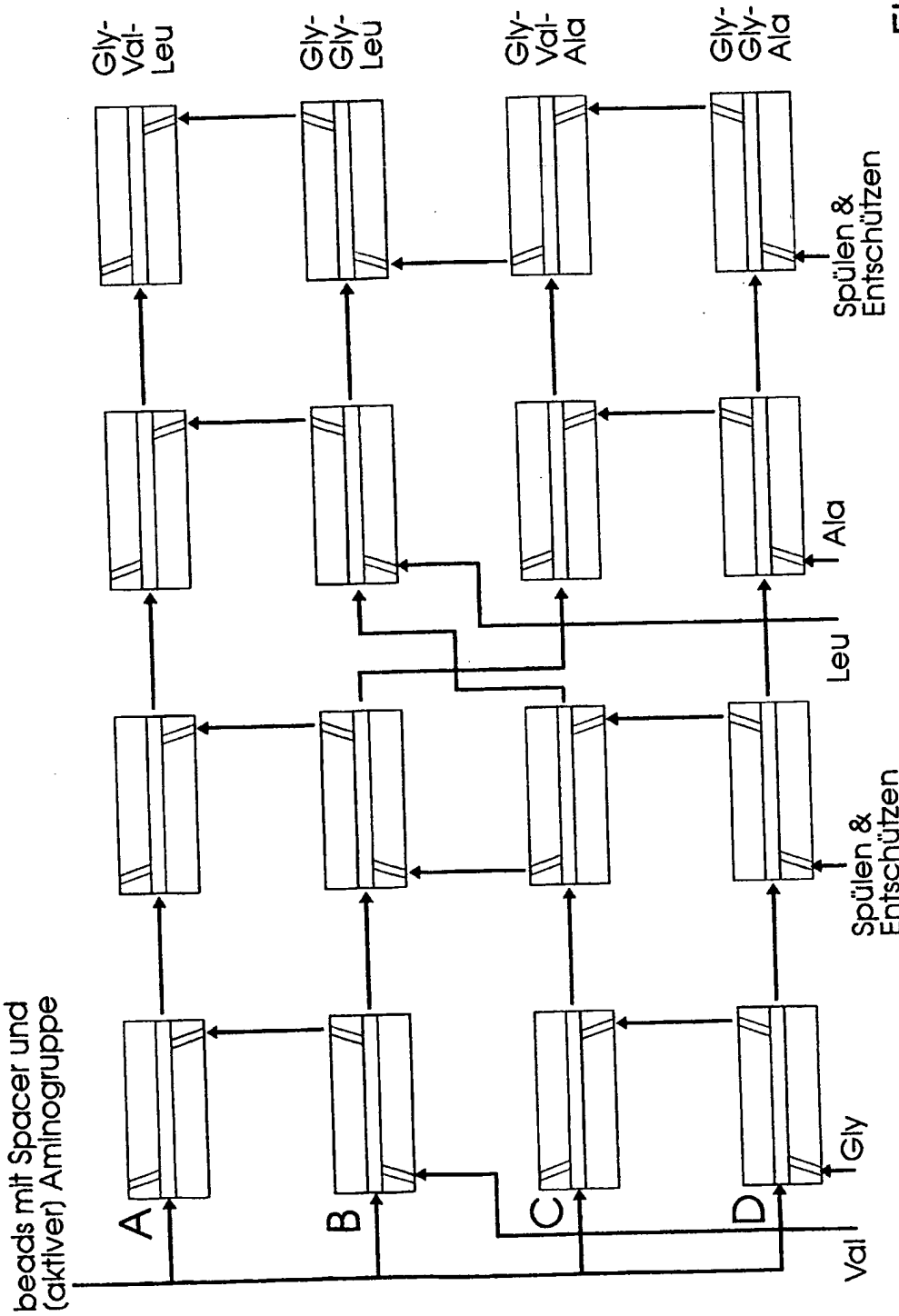

beads mit Spacer und (aktiver) Aminogruppe
A
B
C
D
Val
Gly
Leu
Ala
Spülen & Entschützen
Spülen & Entschützen
Gly-Val-Leu
Gly-Gly-Leu
Gly-Val-Ala
Gly-Gly-Ala
1
2
3
4

Fig. 6

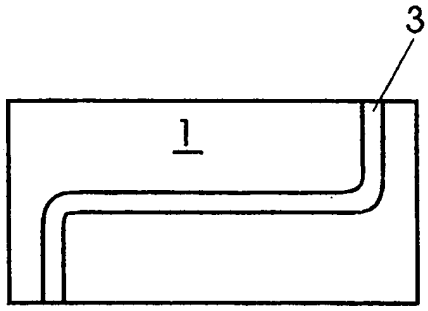


Fig. 7a

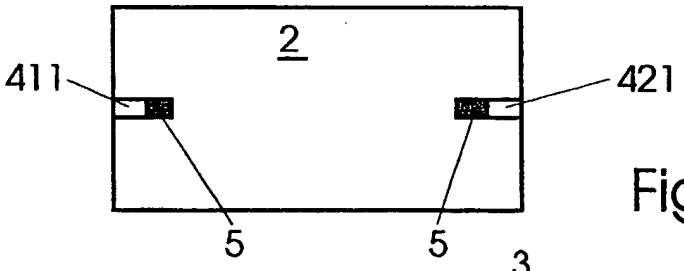


Fig. 7b

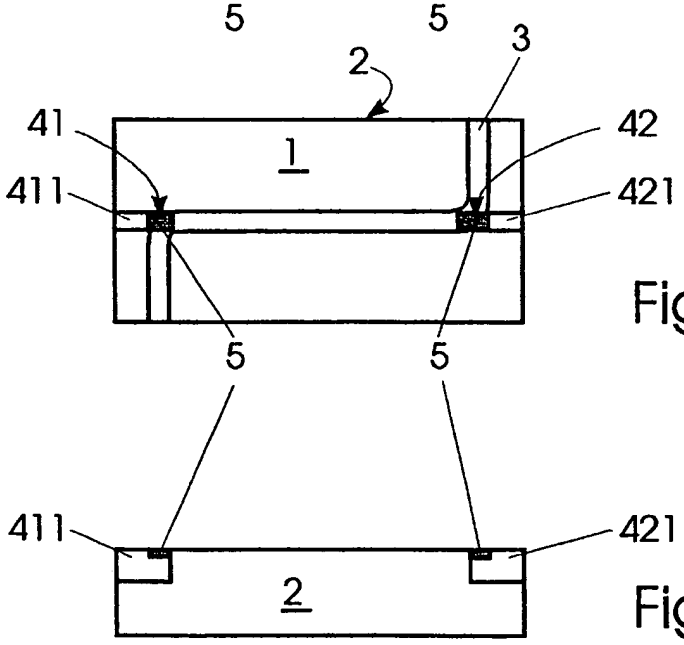


Fig. 7d

Fig. 7c

MICROCOLUMN REACTOR

BACKGROUND OF THE INVENTION

The invention relates to a microcolumn reactor for carrying out reactions on solid phases and/or with biological cells. Thereby, the proposed microcolumn reactor can be applied, for example, with advantage in the following synthesis processes and separation processes:

- in Grignard reactions and in the manufacture of other metal-organic compounds,
- in drying of solvents by aid of metallic or oxidic dessicants,
- in ion exchange processing, and
- in the extraction of solid phases.

More particularly, the invention will find application in the field of complex combinatorial-chemical operations or in screening operations or in automatically carrying out biological screening processing.

Sample particles ("beads" or "Perlen") have been used in separations and synthesis in the laboratory work for decades. These particles mostly are glass or polymeric globules that have diameters of 0.01 mm up to 1 mm, typically about 0.1 mm, which are filled, dry or pre-swelled, as a loose material into a receptacle where they are then flushed by a liquid, whereby an adsorption process or a reaction process takes place between the solid phase surface of the particles and the liquid surrounding the particles. Methods of the column chromatography (for example, gel filtration), of the column extraction, of the immundiagnosis, of the bio-

molecule purification (for example, DNA cleaning), as well as of the homogeneous and heterogeneous synthesis (for example, of oligonucleotides, peptides or combinatorial substance libraries) utilize these techniques. With all these methods and devices, a solid-phase is stationarily integrated during the reaction in the reaction vessel, whereby reactants are bound to the solid phase or the latter serves as a reaction surface. The processes comprise a sequence of individual binding operations and separation operations. In such devices, a removal of the stationarily arranged solid phase from the reactor in the course of an operation series is either not provided for, or not possible or it is time consuming and not very practical.

SUMMARY OF THE INVENTION

It is an object of the present invention to provide a microcolumn reactor for synthesis and separation processes on small sample volumes, by aid of said microcolumn reactor, instead of an alternating sequence of binding and elution processes of a solid phase that is stationarily bound during an operation series, an exchange of the stationary solid phase, for example, after loading can be performed in order to more efficiently separate, for example, complex substance mixtures or particles and cells and to carry out combinatorial syntheses more easily and faster.

The object is realized by the features of the first claim. Advantageous embodiments are covered by the dependent claims.

The very essence of the invention consists in that a microcolumn reactor for carrying out reactions on solid phases and/or biological cells is provided, which is comprised of at least a first and a second substrate wafer which are linked with one another in a common plane and whereby at least one longitudinally extending channel is provided in at least one of the substrate wafers, said channel, in a preselectable section of its longitudinal extension, is captured by two passage openings which are provided in and into the opposite substrate wafer. The passage openings are separated from the channel by a partially permeable sieve-like membrane, the transmission range of which is so dimensioned as to preselectably prevent the microbeads and/or cells, which are introduced into the channel, from entering the passage openings. The channel is provided with at least two further openings which are disposed outside the section defined by the passage openings, said further openings are adapted to introduce and/or to displace the microbeads and/or the cells provided in, respectively above the section by applying a fluid pressure. At least one of the passage openings and one of the further openings are adapted to be closed.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The invention will be explained in more detail by virtue of schematical embodiments. There is shown in:

Fig. 1 an exploded view of a first embodiment of a microcolumn reactor with its functionally essential components,

Fig. 2 an exploded view of a second embodiment of a microcolumn reactor with its functionally essential components,

Fig 2a another type of connection of the passage openings with inlet channels and outlet channels, respectively,

Fig. 3 a longitudinal section through a part of the embodiment according to Fig. 1 or Fig. 2,

Fig. 4 and 5 possible arrangement designs of a plurality of microcolumn reactors,

Fig. 6 a block diagram exemplifying the connection of a plurality of microcolumn reactors for the synthesis of a special substance library, and

Fig. 7a-d a further embodiment of a microcolumn reactor in different steps of manufacture.

In Fig. 1, number 1 designates of a first embodiment of a microcolumn reactor shown in an exploded view with its functionally essential components. According to Fig. 1, the microcolumn reactor is comprised of two substrate wafers 1, 2, having, in the present example, an elongated channel 3 inserted into said first substrate wafer 1 which here is made of glass and has the dimensions of 15 mm · 8 mm · 1 mm. The channel 3 is given a width of 1 mm, a depth of 100 µm and a length of 10 mm. Said channel is connected via two openings 61, 62, which here are bore holes, to two fluid connection ports (not shown). As to the second substrate wafer 2, a silicon chip having the dimensions of 15mm·8mm·0.5mm has been selected, into which two passage openings 41, 42 have been worked

in in such a manner that, when precisely position fitted relative to the glass plate 1, they capture a section a, which in the example comes to lie across the end portions of the channel 3. The passage openings 41, 42 are covered by a partially permeable membrane of the sieve type, here in the form of a porous membrane of siliconoxinitride. In the example, the membrane has a thickness of 2µm and the transmission areas 51 of the membrane have pores with diameters of 5µm. Depending on the special case of application and on the microbeads 6 to be used, the actual sizes of the transmission area 51 can be variably and preselectably designed. The pore membrane has the task to hold back the particles or cells 7 that are to be introduced into the channel 3. Furthermore and depending on the kind of application of the microcolumn reactor, the membrane 5 can, within the frame of the invention, be formed by a nano-porous thin layer membrane, the pore size of which can be selected to lie within a range between 5...500 nm.

If there is intended to provide to the passage openings 41, 42 a shape as indicated in Fig. 3, where the passage openings, being in parallel to the surface normal n of the second substrate wafer 2, are formed by two channel ranges in the shape of two truncated pyramids standing via their small base faces top-to-top, then a Si(100)-wafer is used for the substrate wafer 2 which on both of its faces is provided with a suitable etching mask (for example, Si-oxinitride). Said mask, on the front side, forms an array of micro-windows, the dimensions of which define the pore width. Typically, a pore width of 5 µm is realized. This can easily be manufactured by conventional means of the photolithography and the

etching technique. Two windows are structurized from the rear side of the Si-wafer centrally to this pore structure in such a way that two channel ranges in the shape of two truncated pyramids result from the etching procedure carried out on both sides, whereby the surfaces of said channels which are in opposition to the first substrate wafer 1 are closed by sieve bottoms.

When at the same time with generating the passage openings 41, 42 channel structures adapted for a fluid contact of the mobile phase within the substrate plane of the substrate wafer 2 have to be generated, so that the connection ports 41, 42 are, for example, laterally funneled out from the leading faces of the microcolumn reactor, then in the present example, there is a Si-wafer (in a 100-orientation for inclined channel walls or in a 110-orientation for vertical channel walls) employed for the substrate wafer, which is provided with a sieve pore membrane mask structure 5 which, in the range of the extending channel 411, 412, is accompanied by a window which corresponds to the channel width and which extends up to the rim of the chip (refer to Fig. 7a-d). The rear side of the Si-wafer is entirely covered by a protective coat (for example Si_3N_4) which is resistant to etching. At first, the Si-wafer is etched in an etching bath which acts isotropically (for example, on HF-basis) in such a way that the stems between the individual pores of the sieve structure mask are completely underetched. Subsequently the etching is continued in an anisotropic etching bath (for example, on a KOH-basis), to obtain the inclined and vertical, respectively, edges of the channel. In Fig. 7a-d the results of the foregoing procedure is shown by means of an exemplary

structure. Thereby in Fig. 7a a channel 3 can be seen which is inserted into the first substrate wafer 1. Fig. 7b shows the structure inserted into the first substrate wafer 1, including the formed channel sections 411 and 421 extending up to the rim portion of the substrate, whereby Fig. 7c shows the relations represented in Fig. 7b in a lateral section, and Fig. 7d illustrates in a transparent plan view the orientation of the individual parts mentioned relative to one another with the first substrate wafer and the second substrate wafer being connected to one another.

The first and the second substrate wafers 1,2 described in connection with Fig. 1 are connected with one another by anodic bonding after manufacture of the structures described.

The special embodiments described hereinbefore are particularly advantageously to be manufactured by conventional working steps of approved microstructuring techniques, however, the invention is not limited thereto. It is possible as well, to use a glass-wafer and/or a wafer made of a synthetic material for the first and/or the second substrate wafers 1,2, whereby the channel 3 is inserted into the first substrate wafer 1 and the surface of the second substrate wafer 2 opposing said first substrate wafer 1 is entirely covered by a membrane in which at least in the range of the passage openings 41, 42 a microstructurized perforation is provided in order to form the transmission areas 51. In particular, here the second substrate wafer 2 can be provided with a perforated polymeric foil 50 covering the substrate wafer, as schematically indicated in Fig. 2. Such an embodiment even allows for other pathways for the channel, as

indicated in Fig. 2a by way of example with respect to the channel pathways 411 and 421 in the substrate wafer 2.

In Fig. 3 there is shown a longitudinal section through a part of the embodiments according to Fig. 1 and 2 which have already been described. Thereby it is rendered visible how the channel 3 with the substrate wafers 1, 2 in their assembled state is filled with the solid phase, here in the form of microbeads 7. With the present proposal it is not necessary to have extreme packing densities of the stationary phase 7. It is only important that the distances between the particles of the stationary phase 7 are so dimensioned that a molecule contacts the stationary phase frequently enough during its dwell time in the reactor chamber, which is here to be understood as the section of the channel 3 between the passage openings 41, 42. This will already be given with particle sizes in the mean to the lower micrometer range at hold-up times of less than one second, partially in the lower millisecond range. The definition of the particle sizes and/or of the cells to be retained or passed through depends on the given actual task and on the pore sizes, which have to be adapted accordingly, of the partially permeable sieve-like membrane 5. The pore size has to be so dimensioned that any blocking of the pores is eliminated. In Fig. 3 there is also schematically indicated that the individual flow paths in the microcolumn reactor shown are selectively closeable by at least two valves 91, 92. The openings 42, 62 can each optionally be closed by a respective further valve, not shown in Fig. 3. This permits a freely selective addressing of the two inlets 61, 41 and of the two outlets

42, 62 of the microcolumn reactor. Thus a microcolumn reactor is provided in which not only the mobile phase, for example, a homogeneous fluid, the flow path of which is indicated in Fig. 3 by the arrows i and o, can be moved but also the stationary phase, here the microbeads 7. The closing of one respective inlet flow or outlet flow now permits to selectively transport the mobile phase and/or the stationary phase 7 as a suspension. Thus a fast exchange of separation material will be possible, and there can be even built up solid phase separation logics and synthesis logics by a combination of a plurality of the microcolumn reactors described. Due to the micro-fluidic separation of the mobile phase and the stationary phase, specifical binding processes and separation processes can thus be carried out, which will be described in more detail in the following.

In Fig. 4 and 5 there are schematically indicated several possible forms of arrangement of a plurality of microcolumn reactors. Thereby, depending on the kind of realization, the microcolumn reactors can be, in analogy to Fig. 1 and 2, of a discrete design and can be combined with one another. Alternatively, as shown in Fig. 4 and 5, a plurality of such microcolumn reactors can be in a linear combination (Fig. 4) of a first and a second substrate wafer each, or there can be connections between a plurality of such microcolumn reactors in different planes (Fig. 5), whereby one respective plane is designed in analogy to Fig, 4. Depending on the preselectable reaction procedure, the proper reactor sections, defined by the length of section a, whereby the passage openings 41, 42 determine the channel 3 length, can be arranged to one another equidistantly by a

distance b or in a variably selectable distance c. It is also possible to select different lengths for the distances of the passage openings 41, 42 from one reactor to the next, refer to distance a and a1 in Fig. 4. The mentioned feasibilities are only determined by the reactions to be carried out with the microcolumn reactors. Further components, in particular such also designed in microsystem techniques, as for example, optical detectors, analysis units, calorimeters, electrochemical detectors etc., can be comprised in an interconnection of a plurality of microcolumn reactors, as indicated, only schematically, by such a unit 8 in Fig. 5.

The proposed microcolumn reactor and its multifold application by an interconnection of a plurality of individual microcolumn reactors is particularly suited for performing automated processes of agent development by means of bead-bound solid phase synthesis. A plurality of such microcolumn reactors can be connected to one another and by way of valves, which have to be provided, in order to obtain fluid-logics that permit to carry out, for example, more complex combinatorial-chemical or screening operations in a micro-automated way. Particularly in biologic screening processes, also cells can be introduced into the system instead of the micro-beads, indicated in Fig. 3. The reactor is also suited for the micro-modular combination with micro-flow cuvettes in micro-photometric, micro-fluorimetric, or micro-chemo-luminometric measurements.

The proposed microcolumn reactor permits a re-charging by pushing new reactants (micro-beads and/or cells) through the channel 3 in that a fluid

pressure p is applied so that a further variability is given for the entire device at a simultaneously lowest possible dead volume.

The represented advantageous possibilities of application will be indicated in more detail by way of the following examples.

At first, the synthesis of a library of 4 tripeptide gly-val-leu, gly-gly-leu, gly-val-ala, and gly-gly-ala will be described in a micro-reactor fluid system.

In the example, a system of 16 microcolumn reactors will be employed, which are fluidically interconnected, as indicated in Fig. 6. At first, the micro-reactors A1 and B1 as well as C1 and D1 are charged with micro-beads in the form of polystyrene-synthesis-beads, to the surfaces of which the amino acid glycine is coupled by an ester linkage to a benzyl group as a spacer. After blocking the fluid channels for the stationary phases (beads) via the channels, the inlets and outlets of which are provided with sieve bottoms, the four microcolumn reactors are flushed for the mobile phases in pairs (A/B) by a 1:1 mixture of a warm solution of dicyclohexylcarbodiimide and valine, respectively (C/D) by a 1:1 mixture of warm solution of dicyclohexylcarbodiimide and glycine. Thereby the amino groups of the added amino acids are protected by tertiary-butyloxycarbonyl-groups. After the first flushing step, all the stationary phases are moved on to the module row 2 by a respectively applied fluidic pressure, and are flushed there by the series-connected channels to be ready for the mobile phase and are de-protected by passing through a slightly aqueous trifluoroacetic acid. Subsequently, the fluid phases are

moved on to the module group 3, whereby the stationary phase of B2 is moved on to C3 and that of C2 on to B3. In the module row 3, there is carried out, in analogy to the module row 1, the transfer by protected amino acids, whereby leucine is now added instead of valine, and alanine is now added instead of glycine. After this operation and after a first elution step, the stationary phases are moved on to the module row 4 and there the protective groups are separated. Subsequently the four groups of synthesis-beads are then removed at separate outlets and, in order to release the tripeptides, the benzylester links are separated.

In a further example for application the manufacture of ethyl-grignard from ethylchloride for micro-fluid-syntheses will be described.

At first, as a stationary phase, a suspension of magnesium powder in dry ethylether is loaded into a microcolumn reactor. After closing the channel for this stationary phase, and to make ready for the mobile phase, ether is displaced by a warm solution of ethylchloride in ether via the inlet and the outlet. At the outlet of the mobile phase ethyl-grignard is taken out as an ether solution.

The microcolumn reactor can be utilized in the manner of a chip-cartridge also for rendering available almost any grignards and other metal-organic compounds for micro-fluid-syntheses in the form of a chip. The system is particularly advantageous since the solutions can easily be kept anhydrous and oxygen-free (for example, in contrast to microtiter plates and nanotiter plates) and, due to the small reaction volume, the emitted heat of

reaction can easily be dissipated. Thus an otherwise dangerous overheating of the reactor cannot occur.

According to the various possible applications described in the initial part of the specification, the proposed microcolumn reactor can be utilized with advantage in many a way.

All features disclosed in the specification, in the subsequent claims, and in the drawing can be substantial for the invention both, individually and in any combination with one another.

List of reference numerals

1	-	first substrate wafer
2	-	second substrate wafer
3	-	channel
41, 42	-	passage openings
411, 421	-	channel sections (in the second substrate wafer)
5	-	partially permeable sieve-like membrane
50	-	polymeric foil
51	-	transmission area (pores)
61, 62	-	openings (in the first substrate wafer)
7	-	micro-beads and/or cells
8	-	components such as, for example, optical detectors, analysis units, calorimeters, electrochemical detectors etc.
91, 92	-	valves
a, a1	-	section between passage openings
b	-	equidistant spaces between associated passage openings
c	-	different distances between associated passage openings
i	-	inlet for the mobile phase
o	-	outlet for the mobile phase
n	-	surface normal
p	-	fluidic pressure
A1 to D4	-	microcolumn reactors

CLAIMS

1. Microcolumn reactor for carrying out reactions on solid phases and/or biological cells comprising at least a first and a second substrate wafer (1; 2) being engaged to one another in a common plane, whereby at least one longitudinally extending channel (3) is inserted into at least one of said substrate wafers (1; 2), said channel, in a preselectable section (a) of its length, being captured by two openings (41, 42), which are passed through the substrate wafer, whereby filter elements are provided, characterized in that the passage openings (41, 42) are separated from the channel (3) by a partially permeable sieve-like membrane (5; 50), the transmission areas (51) of said membrane are so dimensioned that they preselectably prevent micro-beads and/or cells (7), which are introduced into the channel (3), from entering into the passage openings (41, 42), and in that the channel (3) is provided with at least two further openings (61, 62) outside of the section (a) captured by said passage openings (41, 42), said at least two further openings (61, 62) being adapted to enable a loading and/or a displacement of the micro-beads and/or cells (7), provided above the section (a), by applying a fluidic pressure (p), and in that means (91, 92) are provided for temporarily closing of at least one of the passage openings (41, 42) and of one of the openings (61, 62).

2. A microcolumn reactor as claimed in claim 1, characterized in that glass is selected for the first substrate wafer (1) and a silicon wafer for the second substrate wafer (2), whereby the channel (3) is inserted into the glass plate (1) and the surface of the silicon wafer (2) opposing said glass plate is entirely covered by a coat, into which a micro-structurized perforation is provided at least in the section of the passage openings (41, 42), said micro-structurized perforation being for forming transmission areas (51).

3. A microcolumn reactor as claimed in claim 1, characterized in that a glass plate and/or a plate made of synthetic material is/are selected for the first and/or for the second substrate wafer (1, 2), whereby the channel (3) is inserted into the first substrate wafer (1) and the surface of the second substrate wafer (2) opposing said first substrate wafer (1) is entirely covered by a membrane, into which a micro-structurized perforation is provided at least in the section of the passage openings (41, 42), said micro-structurized perforation being for forming transmission areas (51).

4. A microcolumn reactor as claimed in claim 3, characterized in that the membrane is formed by a perforated polymeric foil (50) covering the second substrate wafer (2).

5. A microcolumn reactor as claimed in claim 2, characterized in that the first and the second substrate wafer (1, 2) are connected to one another by anodic bonding.

6. A microcolumn reactor as claimed in claim 2 or 3, characterized in that the first and the second substrate wafer (1, 2) are connected to one another by adhesives outside of the range of the channel (3).

7. A microcolumn reactor as claimed in claim 3, characterized in that the first and the second substrate wafer (1, 2) are connected to one another by externally provided clamping means.

8. A microcolumn reactor as claimed in claims 1, 2 or 3, characterized in that the passage openings (41, 42) are connected to a respective channel (411, 421) which is arranged in the plane of the second substrate wafer (2) and extends to the rim portion of the substrate.

9. A microcolumn reactor as claimed in one of the preceding claims, characterized in that a channel (3) is defined by a plurality of passage openings (41, 42), whereby respectively correlated passage openings, which constitute an inlet (i) and an outlet (o), and passage openings, which define a section (a) of the channel (3), are arranged to one another equidistantly (b) or in variable and different distances (c).

10. A microcolumn reactor as claimed in claim 9, characterized in that, when a plurality of correlated passage openings (41, 42) are provided on a common substrate or when a plurality of discrete microcolumn reactors are fluidically interconnected, the respective distances (a; a1) of correlated passage openings, which form one inlet and one outlet, are designed, adapted to the actual reaction process, of different length.

11. A microcolumn reactor as claimed in claim 1, characterized in that a plurality of substrate wafers, which have a channel (3) and two passage openings (41, 42) each, are linearly and/or in a plurality of planes fluidically interconnected with one another as separate units each, whereby further components (8) such as, for example, optical detectors, analysis units, calorimeters, electrochemical detectors etc. are provided at preselectable connection sites.

12. A microcolumn reactor as claimed in claim 1, characterized in that a plurality of substrate wafers, which have a channel (3) and two passage openings (41, 42) each, are linearly and/or in a plurality of planes fluidically interconnected with one another as separate units each, whereby further micro-structurized components (8) such as, for example, optical detectors, analysis units, calorimeters, electrochemical detectors etc. are provided integrated in the entire system.

13. A microcolumn reactor as claimed in claims 1 and 2, characterized in that the passage openings (41, 42) are, in parallel to the surface normal n, designed by two channel ranges in the shape of two truncated pyramids standing via their small base faces top-to-top one upon the other, whereby an Si(100)-wafer is used for the substrate wafer 2 which on both of its sides is provided with an etching mask, the first masking face of which is provided with transmission areas (51) at least across the passage openings (41, 42), and whereby the second masking face disposed on the opposing wafer face is provided with recesses, the openings of which correspond to the smallest inside cross section of the passage openings (41, 42).

14. A microcolumn reactor as claimed in claims 1, 2, and 8, characterized in that an Si-wafer of 100-orientation or 110-orientation is used for the second substrate wafer, which on one of its sides is provided with a sieve pore membrane mask structure (5) which, in the range of the further extending channel 411, 412, is accompanied by a window corresponding to the channel width, which extends up to the rim of the chip, and the opposite side of the Si-wafer is entirely covered by a protective coat, for example Si_3N_4, which is etching resistant.

15. A microcolumn reactor as claimed in claim 1, characterized in that the membrane (5) is formed by a nano-porous thin-layer membrane, the pore sizes of which are defined in a range between 5...500 nm.

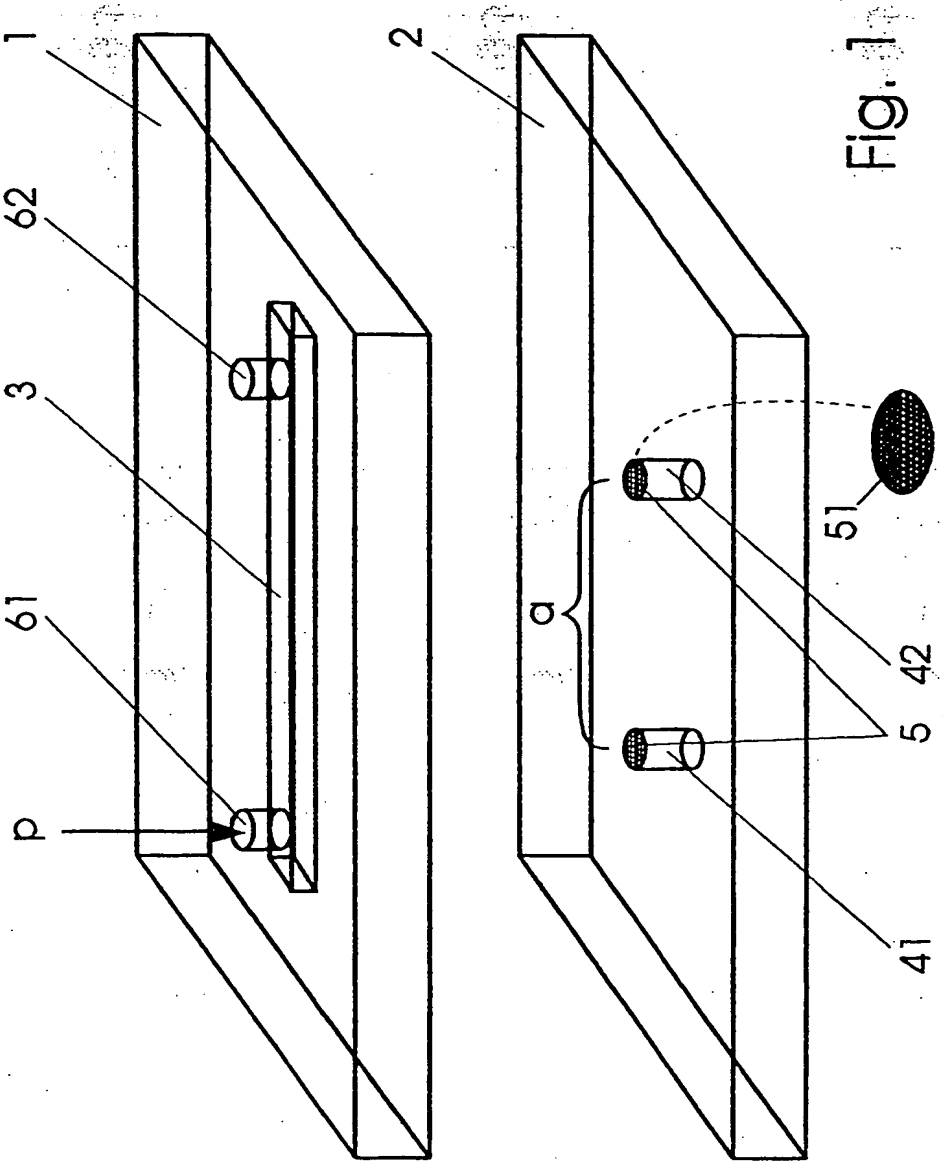


Fig. 1

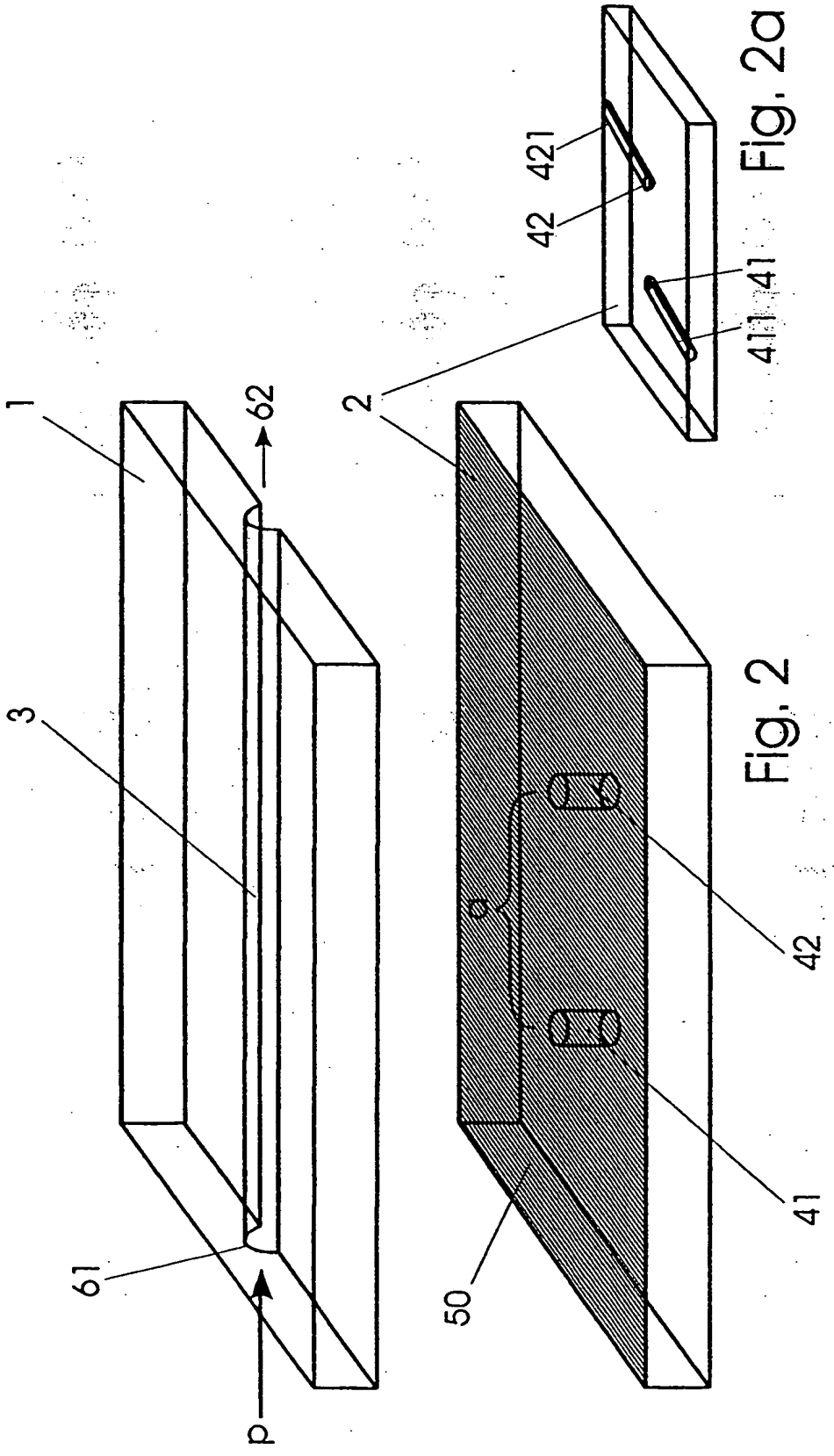


Fig. 2a

Fig. 2

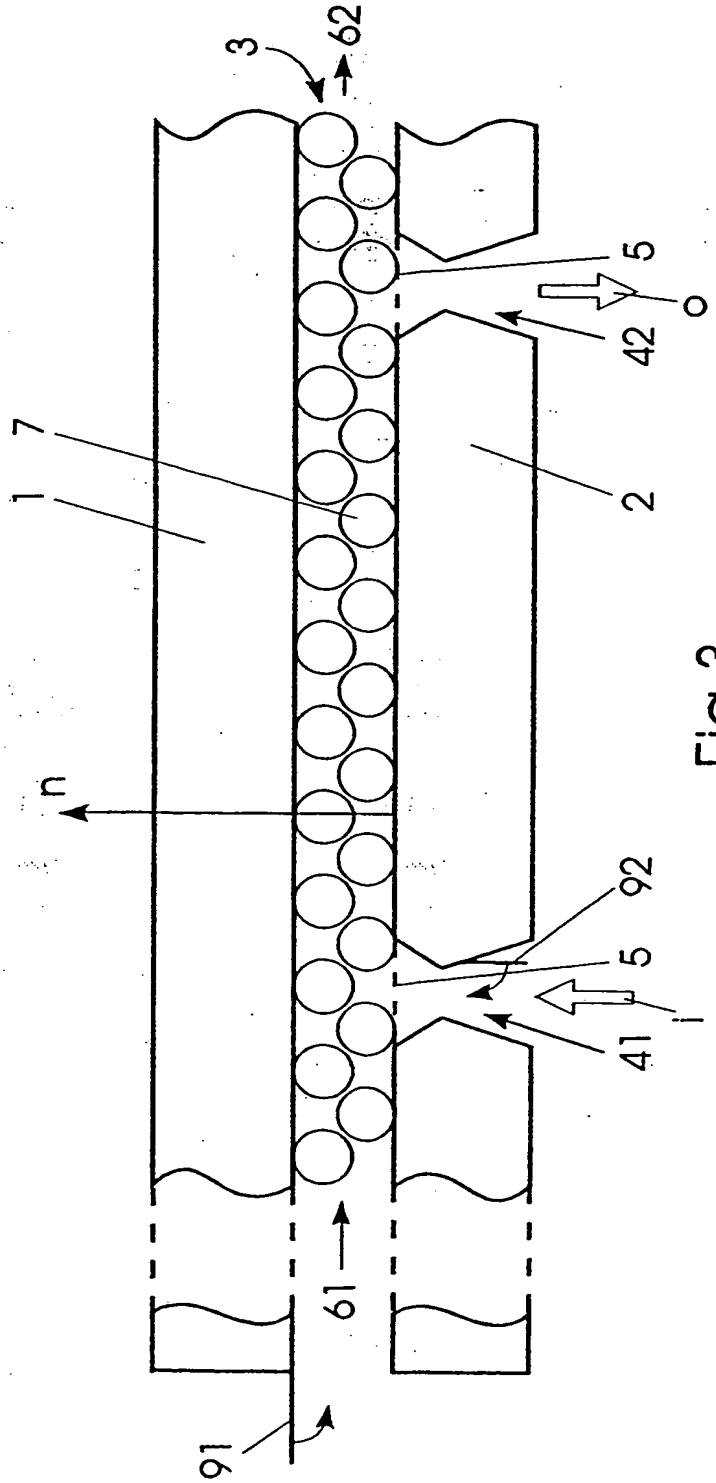


Fig.3

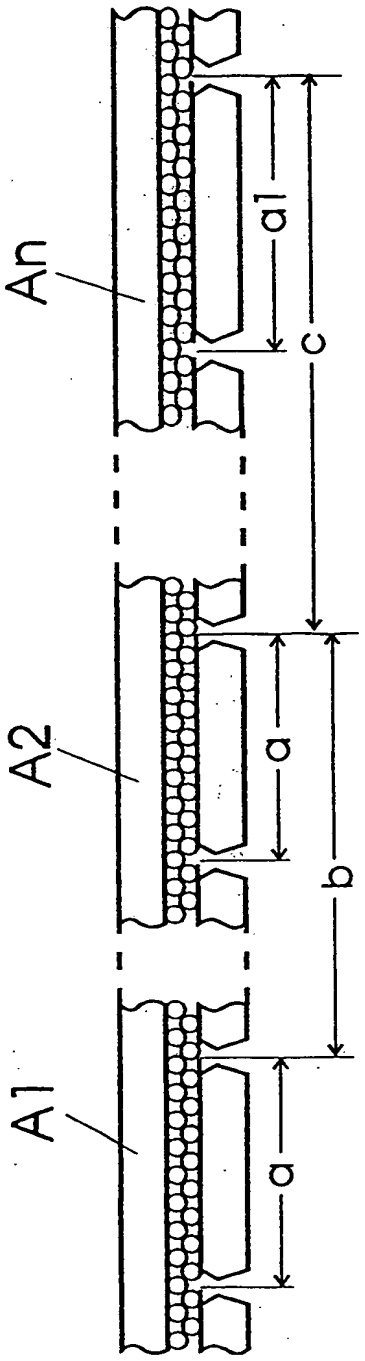


Fig. 4

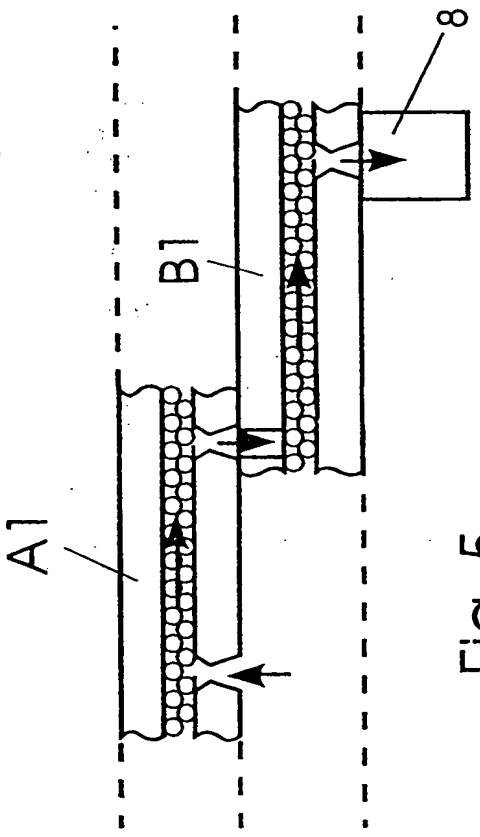


Fig. 5

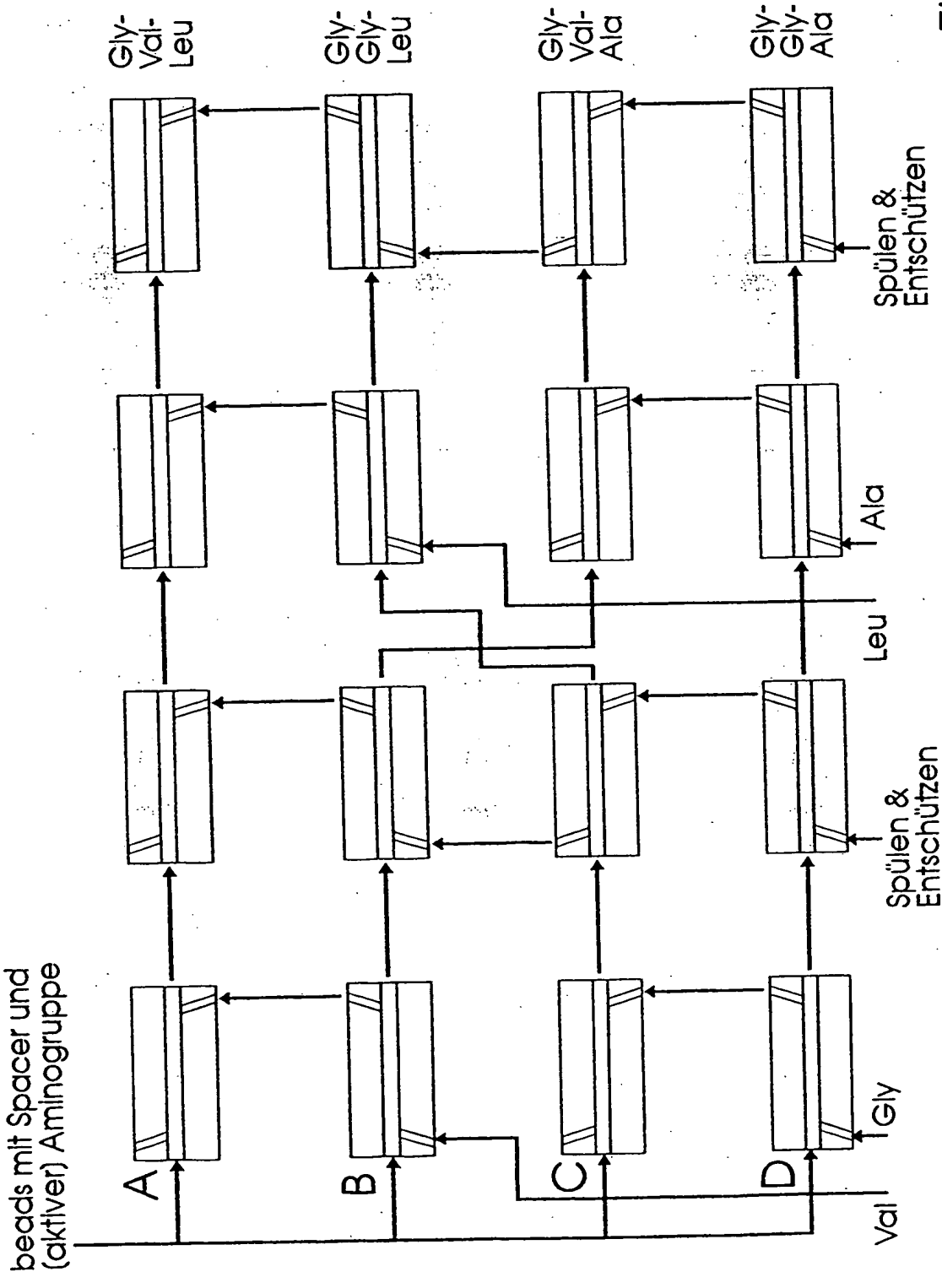

beads mit Spacer und (aktiver) Aminogruppe
A
B
C
D
Val
Gly
Leu
Ala
Spülen & Entschützen
Spülen & Entschützen
Gly-Val-Leu
Gly-Gly-Leu
Gly-Val-Ala
Gly-Gly-Ala
1
2
3
4

Fig. 6

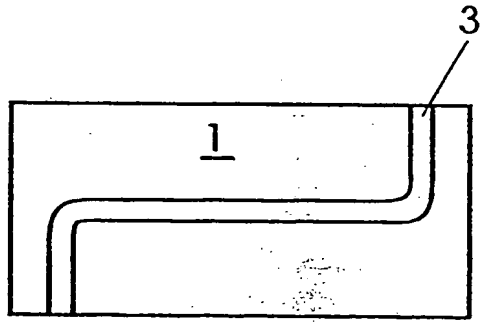


Fig. 7a

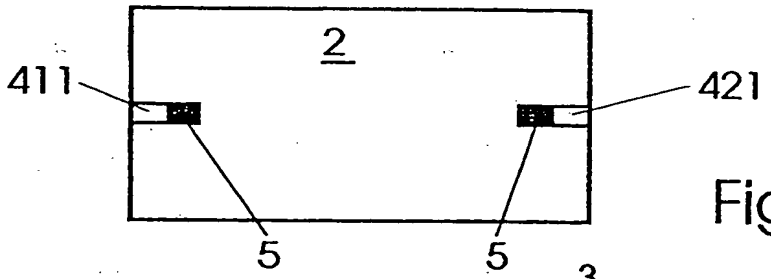


Fig. 7b

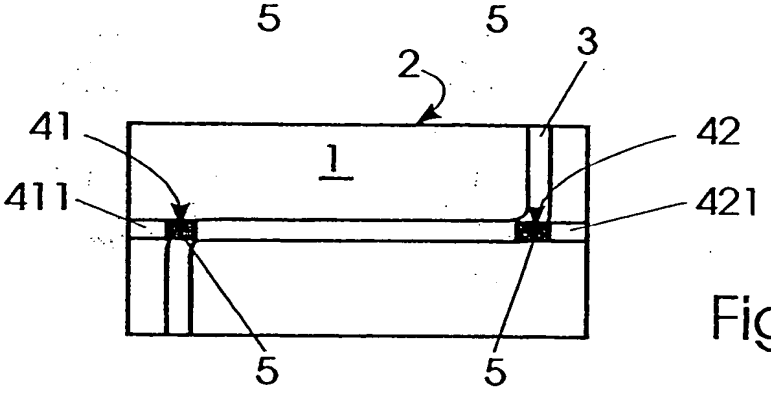


Fig. 7d

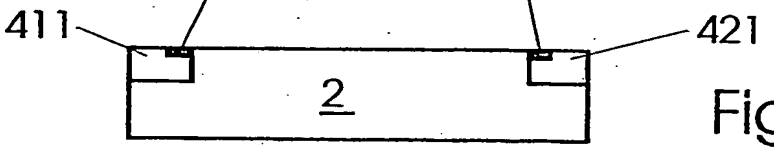


Fig. 7c